บทคัดย่อ

จากความสำเร็จเกี่ยวกับการใช้เชื้อแบคทีเรียที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับสาร ACC ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตฮอร์โมน ethylene ทำให้ปริมาณ ethylene ในพืชลดลงเมื่อเผชิญกับสภาวะเครียด ซึ่งส่งผลให้พืชที่ปลูกด้วยเชื้อที่มีคุณสมบัตินี้สามารถเจริญในสภาวะเครียดหรือสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีขึ้น ดังนั้นในโครงการวิจัยนี้จึงได้นำเชื้อ *Bradyrhizobium* sp. SUTN9-2 ที่ผ่านการพัฒนาให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ ACC deaminase เพิ่มสูงขึ้นด้วยเทคนิค metabolic evolution (SUTN9-2_2.5 และ SUTN9-2_3.0) มาดำเนินการทดลองกับพืชตระกูลถั่ว 2 ชนิด คือ ถั่วเขียว (*Vigna radiata* สายพันธุ์ SUT4) และถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* สายพันธุ์ Tainan 9) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปม และการตรึงไนโตรเจนที่อาจมีการเปลี่ยนแปลงไประหว่างกระบวนการวิวัฒนาการ รวมทั้งทดสอบความสามารถในการลดความเครียดให้กับพืชเมื่อพืชต้องเผชิญกับสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม 3 รูปแบบคือ สภาวะแล้ง สภาวะเค็ม และสภาวะน้ำท่วมขัง จากผลการทดลองพบว่าเชื้อที่ผ่านการพัฒนาด้วยเทคนิค metabolic evolution มีแนวโน้มสามารถเข้าสร้างปมและตรึงไนโตรเจนได้ดีไม่แตกต่างจากเชื้อดั้งเดิมอย่างมีนัยสำคัญในการปลูกภายใต้สภาวะปกติ และเมื่อทำการทดลองภายใต้สภาวะเครียดในระยะเวลานานมากกว่า 2 อาทิตย์ พบว่าเชื้อไรโซเบียม SUTN9-2 ดั้งเดิม เชื้อ SUTN9-2_2.5 และเชื้อ SUTN9-2_3.0 ยังคงเข้าสร้างปม และมีกิจกรรมของเอนไซม์ไนโตรจีเนสได้ แต่สภาวะเครียดส่งผลกระทบต่อการเจริญของพืชตระกูลถั่วทั้งสองชนิดอย่างรุนแรง ถึงแม้โดยภาพรวมเชื้อ SUTN9-2_2.5 จะมีแนวโน้มที่จะสามารถลดปริมาณเอทธิลีนที่พืชปลดปล่อยออกมาได้มากกว่าเชื้อ SUTN9-2_3.0 หรือเชื้อ SUTN9-2 ดั้งเดิม แต่ก็ไม่สามารถช่วยให้พืชเจริญได้ดีเมื่อเทียบกับสภาวะปกติ แต่อย่างไรก็ตามสามารถส่งเสริมการเจริญของพืชได้มากกว่าพืชที่ไม่ได้ทำการปลูกเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นเชื้อ SUTN9-2_2.5 ที่พัฒนาได้จากเทคนิค metabolic evolution สามารถนำเอาไปใช้ในสภาพไร่ได้ โดยในสถานการณ์จริงหากมีการปลูกภายใต้สภาวะปกติ หรือมีการเผชิญกับสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมในระยะสั้น ๆ ก็อาจสามารถช่วยกระตุ้นให้พืชลดความเครียดได้ดีขึ้น และส่งเสริมการเจริญของพืชได้ต่อไป แต่หากเผชิญกับสถานการณ์ความเครียดอย่างรุนแรงการใช้เชื้อไรโซเบียมที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ ACC deaminase ก็ไม่สามารถช่วยให้พืชเจริญได้เทียบเท่ากับสภาวะปกติ

Abstract

According to the successful of using bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase enzyme activity to degrade ACC, a precursor of ethylene synthesis in plant and resulted in reducing stress ethylene in plant and promote plant growth when encountering stress conditions. This research project gathered *Bradyrhizobium* sp. SUTN9-2 wild-type which contain ACC deaminase activity and the metabolic evoluted strains (SUTN9-2_2.5 and SUTN9-2_3.0) in which developed higher ACC deaminase enzyme activity to test their symbiosis ability with 2 economic legumes, mungbean (*Vigna radiata* cv. SUT4) and peanut (*Arachis hypogaea* cv. Tainan 9). The plant growth experiments were performed under normal and 3 types of stress condition, including drought, salinity, and water logged, and then determined the nodulation, nitrogen fixation, and lowering of ethylene production ability which may be changed during the metabolic evolution process. The results showed that metabolic evoluted strains could nodulate and fix nitrogen as good as SUTN9-2 wild-type strain when planted under normal condition. Under extreme stress conditions of more than 2 weeks encountering the stress, the wild-type and metabolic evoluted strains still be able to nodulate and fix nitrogen. However, the extreme stress condition affected overall growth of legumes, although the metabolic evoluted strain SUTN9-2_2.5 tend to reduce stress ethylene more than that of SUTN9-2_3.0 or wild-type. Plant growth under extreme condition was still lower than that of plants grew under normal condition. Nevertheless, the ACC deaminase containing strains could support plant growth significantly higher than non-inoculated plants. In this case, the metabolic evoluted strain SUTN9-2_2.5 can be used as rhizobial inoculant for mungbean and peanut in the field under normal condition and take the benefit of ACC deaminase activity to reduce the stress ethylene and further support the growth when stress condition was appeared in a short period. However, bradyrhizobium containing high level of ACC deaminase activity in this study could not promote plant growth under extreme stress condition as good as that of growing under normal condition.